Système d'Informations Halieutiques
Action Paramètres biologiques

Kélig Mahé
Jean Louis Dufour
Romain Elleboode
Jérôme Félix
Karine Sévin
Vincent Badts

Janvier 2013 – V.1

Guide de prélèvements des pièces calcifiées

Guide de prélèvements des pièces calcifiées

La version informatique de ce document est disponible sur le site Web du SIH

(http://sih.ifremer.fr/)

Version	Date	Commentaires
1.0	Janvier 2013	Création

sommaire

1. Contexte *4*

2. Pièces calcifiées utilisées *4*

3. Type d'échantillonnage *4*

3.1. Echantillonnage en mer **5**

3.2. Echantillonnage des débarquements commerciaux **5**

4. Types de prélèvement *6*

4.1. Prélèvement d'otolithes **6**

4.1.1. Coupe frontale 6

4.1.2. Coupe transversale 8

4.1.3. Coupe ventrale 8

4.2. Prélèvement des écailles **9**

4.3. Prélèvement de l'*illicium* **10**

5. Conservation des pièces calcifiées *10*

6. Paramètres biologiques associés *12*

7. Envoi de pièces calcifiées au pôle de Sclérochronologie *13*

Bibliographie *14*

1. Contexte

Ce guide présente les modes et règles de prélèvement puis d'envois des pièces calcifiées dans le cadre de réseaux de surveillance coordonnés au niveau international, en particulier au sein du règlement européen sur la collecte des données halieutiques (DCF jusqu'en 2013 puis DCMAP, Data Collection Multi Annual Programme à partir de 2014).
Ce guide a pour but de standardiser les prélèvements effectués à l'Ifremer. Il reprend et complète la synthèse française des procédures d'estimation d'âge (Mahé *et al.*, 2009) et le manuel d'utilisation du fichier : "Parametres biologiques v5.xls" (Mahé *et al.*, 2007).

Les procédures décrites dans ce guide sont conformes aux référentiels de la base Harmonie de l'Ifremer.

Pour toutes remarques sur ce document, merci d'envoyer un mail à admsih@ifremer.fr en précisant dans l'objet " Guide de prélèvements des pièces calcifiées ".

2. Pièces calcifiées utilisées

Dans le cadre du suivi européen des espèces commerciales, la pièce calcifiée utilisée est toujours l'otolithe à l'exception de 4 espèces : le bar, la daurade royale et les baudroies blanche et noire. Les otolithes sont les pièces calcifiées les plus utilisées car ils ne jouent pas le rôle de réservoir à calcium, comme le font les écailles et les éléments du squelette interne (Simkiss, 1974). Ils ne sont donc presque jamais résorbés, sauf sous des conditions de stress extrêmes, et conservent ainsi la séquence complète des marques de croissance enregistrées (Panfili *et al.*, 2002). Parmi les 3 paires d'otolithes, pour toutes les espèces étudiées, ce sont toujours les *sagittae* qui sont utilisés. Ce sont les plus gros.

Pour le bar et la daurade royale, l'écaille est la pièce calcifiée utilisée car elle permet pour ces espèces une estimation de l'âge comparable à celle obtenue à partir des otolithes. Les écailles utilisées sont de type cténoïde.

Pour les baudroies blanche et noire, c'est l'*illicium* ou "filament pêcheur" qui est utilisé. Cependant, cette pièce calcifiée est très difficile à lire au même titre que l'otolithe. L'estimation de l'âge chez les baudroies reste encore sujet à débat entre scientifiques.

3. Type d'échantillonnage

Pour le suivi des populations de poissons, des prélèvements sont réalisés soient au cours des 4 trimestres soit une fois dans l'année. Les prélèvements sont réalisés en mer lors de campagnes scientifiques ou à terre en criée. Lorsqu'un poisson est échantillonné pour estimer son âge, il est nécessaire de noter ses paramètres biologiques (espèce, taille et poids individuels, sexe, stade de maturité…) et le contexte d'échantillonnage (date, lieu de capture, lieu d'échantillonnage…).

3.1. Echantillonnage en mer

De nombreuses pièces calcifiées sont prélevées lors des campagnes scientifiques (IBTS, COMOR, CGFS, EVHOE, MEDITS…) selon des protocoles définis par les groupes de travail internationaux coordonnant les campagnes tels le groupe IBTS pour la Mer du Nord et les approches Ouest de l'Europe ou le groupe MEDITS pour la mer Méditerranée.

Lors des observations à la mer sur les bateaux professionnels, des prélèvements de pièces calcifiées peuvent être effectués lorsqu'ils sont prévus par le plan d'échantillonnage national.

3.2. Echantillonnage des débarquements commerciaux

L'échantillonnage des débarquements commerciaux est réalisé en criée (Boulogne-sur-mer, Port-en-Bessin, Roscoff, Brest, Audierne, Lorient, Concarneau, La Rochelle, Les Sables d'Olonne, la Cotinière, l'île d'Yeu, Royan, Sète…). Il se déroule dans les halles à marée climatisées, parfois en chambre froide. La durée de disponibilité du poisson est en général courte et de plus fluctuante. L'échantillonnage nécessite 2 ou 3 personnes car 1 ou 2 personnes mesurent les poissons à l'aide d'un ichtyomètre (Badts & Bertrand, 2012), effectuent les prélèvements et la dernière personne enregistre les données et recueille les pièces calcifiées en pochette ou micro-tubes. La manipulation de poissons destinés à la commercialisation est effectuée avec des gants de caoutchouc propres, granuleux et robustes (Fig. 1).

Figure 1 : Echantillonnage de bars en criée.

Les prélèvements en mer et en criée se complètent. Ainsi, lorsqu'un trimestre, une campagne scientifique permet de commencer les prélèvements pour faire une clé taille/âge d'une espèce, les prélèvements à terre doivent seulement compléter les manques en particulier dans les grandes tailles.

4. Types de prélèvement

Lorsque des pièces calcifiées sont prélevées, il est nécessaire qu'elles soient nettoyées lors du prélèvement afin de retirer le *mucus* et autres dépôts organiques sur la pièce. *Des pièces calcifiées mal nettoyées lors du prélèvement peuvent être inutilisables.*

Les pièces calcifiées peuvent être simplement essuyées dans du papier absorbant immédiatement après leur extraction.

4.1. Prélèvement d'otolithes

Les otolithes étant dans la boite crânienne, il est nécessaire d'ouvrir celle-ci. Pour accéder aux cavités qui renferment les otolithes, il y a plusieurs plans de coupes possibles. Le plan de coupe en section frontale est le plus courant et peut être utilisé avec succès pour tous les types de poissons (quelle que soit l'espèce, la taille individuelle ou encore la morphologie crânienne). Cependant, une méthode donnée est utilisée pour une espèce donnée après une phase d'adaptation et de mise au point technique. Les outils de coupe varient en fonction de la taille du crâne mais en général un couteau est la plupart du temps parfaitement adapté. La coupe doit être réalisée avec précaution pour éviter de sectionner l'oreille interne et les otolithes. Après avoir effectué la coupe appropriée, les otolithes sont en général prélevés avec des pinces fines brucelle.

4.1.1. Coupe frontale

Le poisson est maintenu par les yeux entre le pouce et l'index, une coupe à 45° est réalisée au niveau du front (Fig. 2).

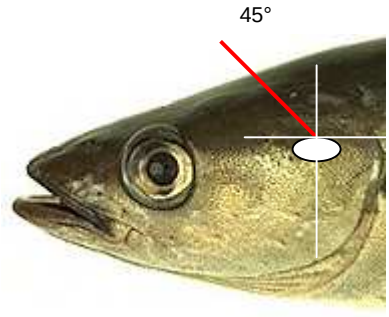


Figure 2 : Position de la coupe frontale du crâne (trait rouge).

Une autre technique utilisée pour les rougets barbets de roche et de vase est une coupe frontale inversée (Fig. 3).

Figure 3 : Position de la coupe frontale inversée du crâne (trait noir).

Après avoir ouvert le crâne et déplacé l'encéphale en basculant la région antérieure de la tête du poisson, les deux plus gros otolithes (les *sagittae*) sont facilement observables. Ils sont prélevés à l'aide d'une pince brucelle en acier inoxydable (Fig. 4).

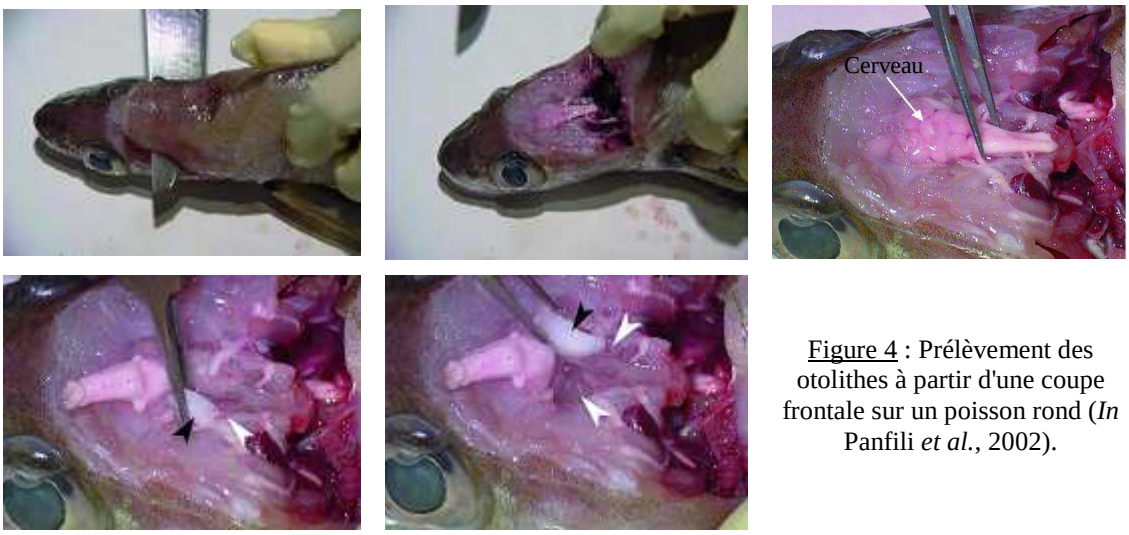


Figure 4 : Prélèvement des otolithes à partir d'une coupe frontale sur un poisson rond (*In* Panfili *et al.*, 2002).

Ce type de prélèvement est aussi réalisé chez des poissons plats. Pour prélever les otolithes, le poisson est maintenu à plat sur le ventre et une coupe frontale est réalisée. Après avoir écarté les deux parties du crâne, les otolithes sont prélevés (Fig. 5).

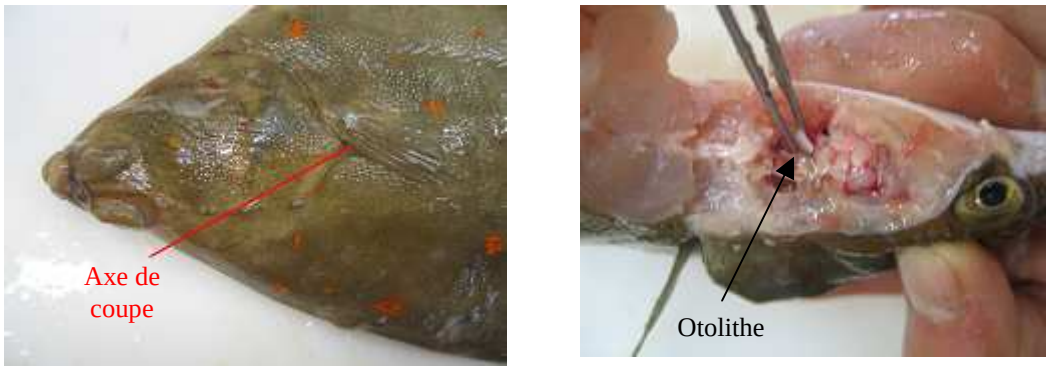


Figure 5 : Prélèvement des otolithes à partir d'une coupe frontale sur un poisson plat.

4.1.2. Coupe transversale

La coupe transversale est réalisée en séparant le corps de la tête du poisson. Cette coupe se réalise de la partie dorsale vers la partie ventrale (Fig. 6 et 7).

Figure 6 : Position de la coupe transversale du crâne (trait noir).

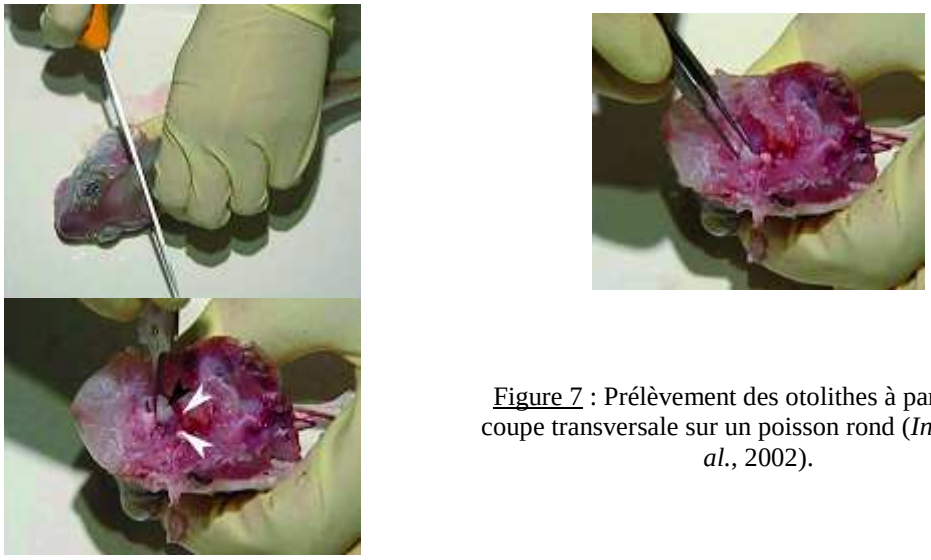
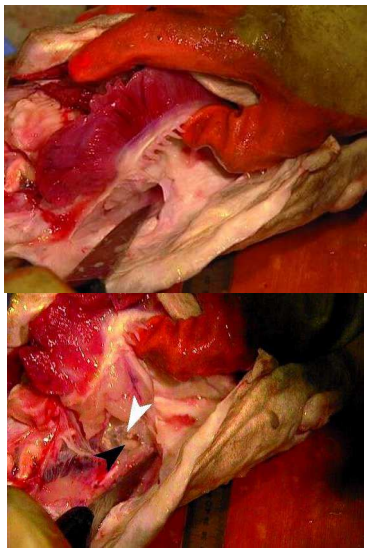


Figure 7 : Prélèvement des otolithes à partir d'une coupe transversale sur un poisson rond (*In* Panfili *et al.*, 2002).

4.1.3. Coupe ventrale

Sur la face ventrale, l'opercule est écarté par rapport à la tête du poisson. Les branchies sont alors visibles et les arcs branchiaux sont coupés sur leur bord interne. La structure ventrale des os du neurocrâne apparaît et tous les tissus environnants doivent ensuite être retirés. Les bulles pré-otiques sont alors localisées dans la partie médio-latérale du neurocrâne. Une légère incision dans la partie externe de ces bulles ouvre l'oreille interne à partir de laquelle les *sagittae* peuvent être prélevés (Fig. 8). Cette technique a l'avantage de ne pas détériorer l'aspect du poisson en vue de sa commercialisation ultérieure. Elle est utilisée pour les poissons ronds éviscérés et saignés ainsi que pour la cardine franche.



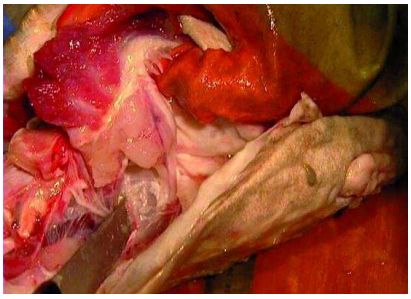


Figure 8 : Prélèvement des otolithes à partir d'une coupe ventrale de la tête à travers les branchies sur un poisson rond (*In* Panfili *et al.*, 2002).

4.2. Prélèvement des écailles

Les écailles sont certainement les structures les plus simples à prélever. Cependant, la zone de prélèvement est très importante pour éviter les écailles régénérées. Chez le bar et la daurade royale, elles sont toutes prélevées sous la nageoire pectorale, zone où la régénération est moins fréquente et laissant peu de traces visibles lors de la commercialisation du poisson (Fig. 9).

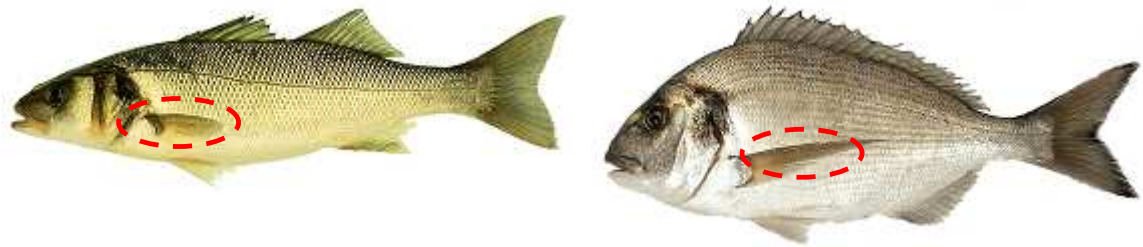


Figure 9 : Prélèvement des écailles sous la nageoire pectorale (zone de prélèvement en rouge) chez le bar et la daurade royale (photographies Pierre Porché).

Le prélèvement d'écailles s'effectue à l'aide d'un couteau à lame en inox propre ou éventuellement avec des pinces brucelle (Fig. 10). Le préleveur passe d'abord la lame d'avant en arrière pour enlever le maximum de *mucus*, les impuretés voire des écailles détachées ne provenant pas nécessairement du poisson puis la lame est passée sur un chiffon propre. La personne effectue, ensuite, un mouvement d'arrière en avant en mettant la lame à 60° et le pouce servant à bloquer les écailles prélevées sur la lame à la fin du mouvement. Le poisson est ainsi écaillé sur 1 à 3 cm² suivant la grandeur du poisson. Il est conseillé de prendre suffisamment d'écailles car sur la totalité du nombre prélevé, le pourcentage d'écailles lisibles peut varier de 0 à 70%. Suivant le contexte du prélèvement il est conseillé de prendre sur un poisson destiné à la vente une vingtaine d'écailles.

Figure 10 : Prélèvement des écailles sous la nageoire pectorale d'un bar en criée.

4.3. Prélèvement de l'*illicium*

Chez les baudroies noire et blanche, le filament pêcheur aussi appelé *illicium* est extrait avec un couteau et les 3-4 premiers centimètres à partir de la base sont collectés. Ce prélèvement ne détériore pas l'aspect du poisson (Fig. 11).

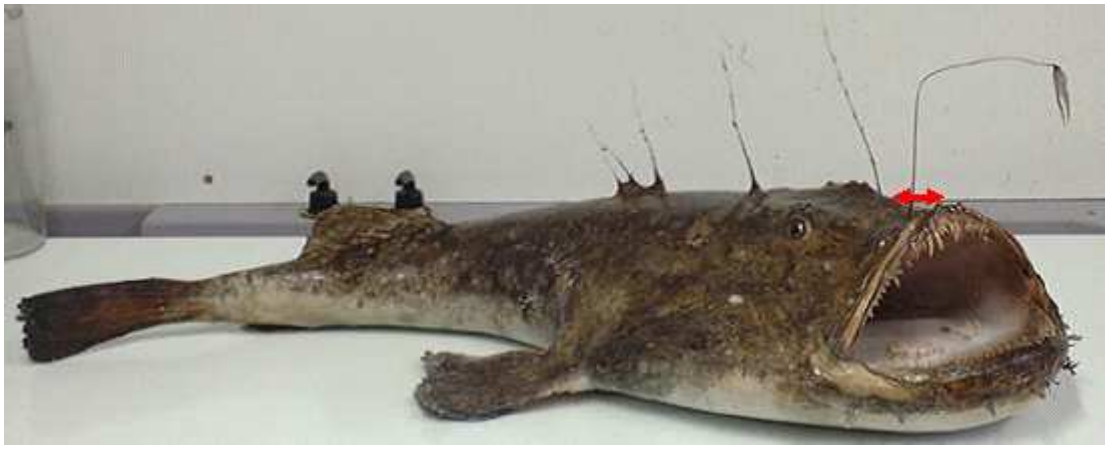


Figure 11 : Prélèvement de l'*illicium* chez les baudroies (axe de coupe en rouge). L'*illicium* est extrait avec sa base nettoyée des tissus mous.

Lorsque les *illiciums* sont prélevés, il est particulièrement nécessaire de les nettoyer car ils présentent souvent énormément de mucus. Celui-ci se collant par la suite aux pochettes de stockage peut rendre les prélèvements *inutilisables.*

5. Conservation des pièces calcifiées

La meilleure méthode pour conserver les otolithes est de les stocker complètement à sec. Après nettoyage, ils sont séchés par simple exposition à l'air à température ambiante ou dans une étuve à basse température (Panfili *et al.*, 2002).

Il y a 2 modes de stockage utilisés à l'Ifremer (Fig. 14):

- des enveloppes papiers
- des microtubes de type Eppendorf ®

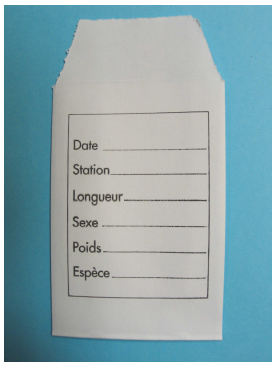


Figure 14 : Pochettes en papier et micro-tubes utilisés par le stockage des pièces calcifiées.

Les eppendorfs sont nécessaire lorsque les otolithes sont très petits et/ou très fragiles comme chez les rougets barbets de roche et de vase et chez l'anguille.

Ces 2 modes de stockage présentent des avantages et des inconvénients. Les pochettes en papier, recommandées par Williams & Bedford (1974), sont très pratiques lors des échantillonnages et lors du rangement pour conserver des pièces calcifiées assez volumineuses mais fragiles. Ainsi, ce système est le plus utilisé à l'Ifremer.

S’assurer que la pièce calcifiée soit au fond de la pochette.

Ne jamais utiliser d'élastiques qui peuvent casser les otolithes

Ne jamais agrafer les enveloppes papier

Le référence de l'échantillon et toutes les informations liées (date, longueur, sexe, stade de maturité sexuelle, espèce, numéro de trait…) sont reportées sur la pochette avant l’introduction de la pièce calcifiée.

L’usage de micro tubes nécessite d’insérer ou de coller une étiquette informative . Les micro-tubes ont l’avantage d’être suffisamment rigides pour protéger efficacement les otolithes des cassures consécutives à la manipulation lors d'envoi ou de rangement.

Les zones de stockage fraîches et obscures sont probablement les meilleures et les otolithes séchés peuvent ainsi être conservés indéfiniment (Brothers, 1987 *In* Panfili *et al.*, 2002).

Il est à noter qu'une conservation dans un milieu aqueux comme l’alcool peut être utilisé. Ceci peut être particulièrement utile pour les otolithes petits et fragiles. La concentration de l’alcool doit être de 95 % au minimum (Panfili *et al.*, 2002).

6. Paramètres biologiques associés

Lorsqu'un poisson est échantillonné pour estimer son âge, il est nécessaire de noter les paramètres biologiques (taille et poids individuels, sexe, stade de maturité…) et d'échantillonnage (date, lieu, …).

Toutes ces données et celles liées à l'âge sont stockées dans un fichier standardisé "parametres biologiques v5.xls" utilisable quel que soit le lieu de prélèvement (en mer ou à terre) et qui comporte les champs suivants :

- Navire
- Engin
- Code_Espece
- Description
- Increment
- Unite_Taille
- Unite_Poids
- Presentation
- Maturite_Echelle
- Type_PC
- Preparation_PC
- Poids_PC
- Cat
- Date
- Numero_Trait
- Lieu
- Zone
- Taille
- Poids
- Sexe
- Maturite
- Age
- Reference_Prelevement
- Reference_PC
- Observations

Les fichiers générés par les séances de prélèvements sont gérés dans une base de données qui offre toutes les passerelles vers la base de données halieutiques Harmonie.

Pour tout envoi de pièces calcifiées, il faut nécessairement compléter un fichier "parametres biologiques v5.xls" selon le Manuel d'utilisation du fichier : Parametres biologiques v5.xls (Mahé *et al.*, 2007) et envoyer par mail.

7. Envoi de pièces calcifiées au pôle de Sclérochronologie

Les pièces calcifiées sont prélevées par tous les laboratoires halieutiques puis envoyées au pôle de Sclérochronologie à l'Ifremer de Boulogne sur mer.

Les pièces calcifiées sont extrêmement fragiles donc il est nécessaire de bien protéger le colis :

- *Technique 1* : Des enveloppes classées ou des piluliers dans un sac thermo soudé (Fig. 15) dans un carton

Figure 15 : Enveloppes classées dans sac thermo soudé.

- *Technique 2* : Une valise compartimentée (Fig. 16) utilisée en campagne en mer et comme colis pour la poste

Figure 16 : Valise compartimentée utilisée pour le transport.

Le transport entre laboratoires doit être préférablement réalisé avec les véhicules IFREMER car ce matériel est très fragile. Lorsque celui-ci n'est pas possible, l'utilisation d'un transporteur ou de la poste peut être réalisée pour l'acheminer au pôle de Sclérochronologie

Les colis sont à adresser à :

Kélig MAHE
IFREMER
Pôle de Sclérochronologie
Centre Manche-mer du Nord
Laboratoire Ressources Halieutiques
150, quai Gambetta
BP 699
62 321 Boulogne sur mer

Contact : Lors du départ d'un colis, il faut envoyer un mail au pôle de Sclérochronologie qui vous informera, en retour, de la réception du colis.

Délai maximum : les pièces calcifiées prélevées au trimestre n, doivent être envoyées au début du trimestre n+1 ; préférer des délais plus courts en cas de prélèvements mensuels.

Bibliographie

Badts, V. & Bertrand, J. 2012. Guide de la mensuration des espèces en halieutique, poissons, mollusques, crustacés, reptiles marins, mammifères marins. http://archimer.ifremer.fr/doc/00001/6237/

Brothers, E.B., 1987. Methodological approaches to the examination of otoliths in ageing studies. *In* : Summerfelt, R.C. & Hall, G.E. (Eds.) The age and growth of fish. *Ames, Iowa, USA: The Iowa State University Press.* 319-330

Mahé, K., Bellail, R., Dufour, J.L., Boiron-Leroy, A., Diméet, J., Duhamel, E., Elleboode, R., Félix, J., Grellier, P., Huet, J., Labastie, J., Le Roy, D., Lizaud, O., Manten, M.L., Martin, S., Metral, L., Nédelec, D., Vérin, Y., Badts, V., 2009, Synthèse française des procédures d'estimation d'âge / French summary of age estimation procedures. http://archimer.ifremer.fr/doc/00000/7294/

Mahé, K., Vigneau, J. & Badts, V., 2007. Saisie des paramètres biologiques. Manuel d'utilisation du fichier : Parametres biologiques v5.xls, 27p.

Panfili, J., Pontual, H. (de)., Troadec, H. & Wright, P.J. (Eds.), 2002. Manuel de sclérochronologie des poissons. Coédition *Ifremer-IRD*, 464p.

Simkiss, K., 1974. Calcium metabolism of fish in relation to ageing. *In* : Bagenal, T.B. (Eds.) Ageing of Fish. *Proceedings of an International Sympopsium. Old Working Survey England Unwin Brothers*. 1-12.

Williams, T. & Bedford, B.C., 1974. The use of otoliths for age determination. *In* : Bagenal, T.B. (Eds.) Ageing of Fish. *Proceedings of an International Sympopsium. Old Working Survey England Unwin Brothers*. 114-123.